



CONFÉDÉRATION SUISSE

OFFICE FÉDÉRAL DE LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE

⑪ CH 665 558 A5

⑤① Int. Cl. 4: A 61 K 9/52

Brevet d'invention délivré pour la Suisse et le Liechtenstein
Traité sur les brevets, du 22 décembre 1978, entre la Suisse et le Liechtenstein

⑫ FASCICULE DU BREVET A5

233

②① Numéro de la demande: 4362/85

⑦③ Titulaire(s):
Debiopharm S.A., Lausanne

②② Date de dépôt: 09.10.1985

⑦② Inventeur(s):
Orsolini, Piero, Martigny 2
Mauvernay, Rolland-Yves, Lausanne
Deghenghi, Romano, Lausanne

②④ Brevet délivré le: 31.05.1988

④⑤ Fascicule du brevet
publié le: 31.05.1988

⑦④ Mandataire:
Kirker & Cie SA, Genève

⑤④ Procédé pour la microencapsulation par séparation de phases de substances médicamenteuses hydrosolubles.

⑤⑦ On procède à la microencapsulation par séparation de phases de substances médicamenteuses hydrosolubles. Les opérations de l'étape de durcissement se déroulent à une température comprise entre env. 0 et env. 25 °C, le nonsolvant utilisé lors de cette étape étant un hydrocarbure aliphatique fluoré ou fluorohalogéné ou un mélange de tels hydrocarbures. Le non-solvant est en outre utilisé en excès par rapport au volume de solvant et non-solvant provenant de l'étape de séparation de phases.

REVENDEICATIONS

1. Procédé pour la microencapsulation par séparation de phases de substances médicamenteuses hydrosolubles, caractérisé en ce que l'étape de durcissement des microcapsules se déroule à une température comprise entre 0 et 25° C et en ce qu'au cours de ladite étape, on utilise à titre de non-solvant un hydrocarbure aliphatique fluoré ou fluorohalogéné ou un mélange d'hydrocarbures fluorés ou fluorohalogénés, ledit hydrocarbure ou mélange d'hydrocarbure étant utilisé en excès par rapport au volume de solvant et de non-solvant provenant de l'étape de séparation de phases.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'excès de non-solvant utilisé au cours de l'étape de durcissement des microcapsules est d'au moins de 5:1 par rapport au volume de solvant et de non-solvant provenant de l'étape de séparation de phases.

3. Procédé selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que l'hydrocarbure aliphatique fluorohalogéné est un fluorohalogénométhane ou un fluorohalogénoéthane.

4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que l'hydrocarbure aliphatique fluorohalogéné est le trichlorofluorométhane, le 1,1,2-trichlorotrifluoroéthane ou le 1,2-dichlorotétrafluoroéthane.

5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que les microcapsules sont à base de poly-L-lactide, de poly-D,L-lactide ou de copolymère de D,L-lactide et de glycolide.

6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la substance médicamenteuse hydrosoluble est un polypeptide.

7. Procédé selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que la substance médicamenteuse est l'hormone de libération de l'hormone lutéinisante et de l'hormone de stimulation des follicules (LH-RH) ou l'un de ses analogues synthétiques, la somatostatine ou l'un de ses analogues synthétiques, la calcitonine humaine ou animale, l'hormone de croissance humaine ou animale, l'hormone de libération de l'hormone de croissance, un cardiopéptide ou un interféron naturel ou recombiné.

8. Procédé selon la revendication 7, caractérisé en ce que l'analogue synthétique de LH-RH est choisi parmi les polypeptides suivants:

(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂,
(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Phe-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂,
(pyro)Glu-His-Trp-D-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NHR¹, ou
(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-NHR¹
R¹ = alkyle inférieur.

9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que la substance médicamenteuse est une substance à effet anti-inflammatoire, antitumoreux, immunodépresseur, antithrombotique, neuroleptique, antidépresseur, antihypertenseur ou un sel hydrosoluble non toxique d'une telle substance.

DESCRIPTION

L'invention a pour objet un procédé pour la microencapsulation par séparation de phases de substances médicamenteuses hydrosolubles.

La microencapsulation de substances médicamenteuses est une technique éprouvée, permettant notamment la protection et l'administration contrôlée de substances médicamenteuses ayant une courte durée de demi-vie in vivo. La forme galénique résultante se présente le plus souvent sous la forme d'une suspension injectable, de très haute efficacité.

Divers modes de réalisation sont décrits dans la littérature (voir par exemple demande de brevet EP N° 0052510). L'une des méthodes les plus utilisées de microencapsulation par séparation de phases (phase-séparation microencapsulation) peut être décrite comme suit:

a) un polymère biocompatible est premièrement dissous dans un solvant organique non miscible à l'eau (CH₂Cl₂ par exemple);

b) une solution aqueuse de la substance médicamenteuse choisie est ensuite dispersée dans la solution organique susmentionnée;

c) un polymère dit non compatible telle une huile de silicone est ensuite introduit, sous agitation, dans la dispersion obtenue sous lettre b, provoquant la formation de microcapsules embryonnaires par dépôt du polymère initialement dissous sur la substance médicamenteuse dispersée;

d) le mélange obtenu sous lettre c est ensuite versé dans un excès de solvant organique non miscible à l'eau et de non-solvant du polymère déposé, tel l'heptane par exemple, provoquant ainsi le durcissement des microcapsules par extraction du solvant organique initial (CH₂Cl₂ par exemple) encore contenu dans la masse de polymère déposé;

e) les microcapsules ainsi durcies sont ensuite filtrées, lavées et séchées, voire stérilisées selon les techniques usuelles.

Les analyses effectuées ont montré que les microcapsules séchées jusqu'à poids constant contenaient encore une portion pondérale élevée de composés organiques indésirables, tel l'heptane utilisé lors de l'étape d ci-dessus. Dans de nombreux cas en effet, il s'est avéré que la quantité de solvant organique résiduelle pouvait être équivalente, voire supérieure, à celle du principe actif (substance médicamenteuse) microencapsulé, ce qui compromettrait fortement toute application pharmaceutique de telles préparations.

Indépendamment de ce qui précède, il a été constaté que l'on obtenait souvent des agrégats de microcapsules, tant au niveau de la séparation des phases que du durcissement des microcapsules, d'où des pertes importantes de rendement, voire le rejet total de certains lots devenus de la sorte inutilisables.

Selon le brevet US N° 4.166.800, on peut éviter l'apparition d'un tel phénomène en opérant à des températures comprises entre -100 et -40° C, tant au niveau de la séparation des phases que du durcissement par addition d'un non-solvant du polymère. L'heptane est indiqué comme un non-solvant de choix pour le durcissement.

La conduite d'opérations industrielles à d'aussi basses températures est onéreuse et source de complications. A l'échelle industrielle, en outre, l'emploi de solvants organiques tel l'heptane par exemple présente un inconvénient majeur, c'est-à-dire l'émission de vapeurs inflammables, voire toxiques, en grandes quantités.

Les difficultés exposées ci-dessus peuvent être avantageusement résolues par la présente invention. Il a en effet été découvert, de façon inattendue, qu'en opérant à une température comprise entre 0 et 25° C pour le durcissement des microcapsules et en utilisant à titre de non-solvant lors de l'étape de durcissement un hydrocarbure fluoré ou fluorohalogéné ou un mélange de tels hydrocarbures, en excès par rapport au volume total de solvant et non-solvant provenant de l'étape de séparation de phases, on supprimait avantageusement toute formation d'agrégats. On a en outre constaté que l'on obtenait ainsi des microcapsules présentant un très faible résidu en composés organiques indésirables, ou tout au moins un résidu parfaitement acceptable pour l'administration thérapeutique desdits microcapsules.

Outre la qualité d'être aisément éliminés lors des opérations de séchage usuelles, lesdits hydrocarbures présentent encore l'avantage d'être non toxiques et inflammables, et de ce fait appropriés à un emploi à l'échelle industrielle.

Selon les cas, la réduction du taux de non-solvant résiduel dans les microcapsules obtenues par le procédé de l'invention peut aller de 10 pour l'heptane à 1, voire moins, pour un hydrocarbure aliphatique fluore ou fluorohalogéné.

Les microcapsules obtenues au moyen du procédé de l'invention sont en outre nettement plus stables que celles obtenues à l'aide des méthodes usuelles. Il a été notamment observé que la couche d'enrobage de polymère était nettement moins sujette à dégradation, par hydrolyse par exemple, lors des essais de vieillissement.

Le terme de non-solvant utilisé plus haut sert en fait à désigner un composé organique liquide non miscible à l'eau, n'exerçant aucune dissolution du polymère constituant la masse essentielle des microcapsules. Ajouté à une suspension organique aqueuse de mi-

microcapsules embryonnaires (étape c ci-dessus), il provoque le durcissement de celles-ci par extraction du solvant organique initial contenu dans la masse de polymère, par exemple CH_2Cl_2 .

Il a été observé que le procédé de la présente invention convenait à la microencapsulation de substances médicamenteuses hydrosolubles fort diverses. A titre d'exemple non limitatif de substances médicamenteuses, on peut citer des polypeptides hydrosolubles telle l'hormone de libération de l'hormone luteinisante et de l'hormone de stimulation des follicules (LH-RH) ou l'un de ses analogues synthétiques (voir à ce sujet brevet CH N° 615.662), ou encore la somatostatine ou l'une de ses analogues synthétiques, la calcitonine humaine ou animale, l'hormone de croissance humaine ou animale, l'hormone de libération de l'hormone de croissance, un cardiopéptide tel l'ANP (humain 1-28) ou un interféron, naturel ou recombiné.

De façon plus générale, les substances médicamenteuses que l'on peut avantageusement microencapsuler à l'aide du procédé de l'invention peuvent être choisies parmi les substances à effet anti-inflammatoire, antitumoreux, immunodépresseur, antithrombotique, neuroleptique, antidépresseur, à l'hypertenseur ou un sel hydrosoluble non toxique de telles substances.

A titre de non-solvant au sens de la présente invention, on peut avantageusement utiliser les hydrocarbures aliphatiques fluorés ou fluorohalogénés du commerce, tels ceux commercialisés sous l'appellation générique FRÉON. Lesdits hydrocarbures seront de préférence choisis parmi ceux qui se présentent sous forme liquide à pression ambiante et à une température comprise entre 0 et 25° C. Des résultats particulièrement intéressants ont été observés lors de l'emploi de trichlorofluorométhane et de 1,1,2-trichlorotrifluoroéthane ou de 1,2-dichlorotétrafluoroéthane. Cette énumération n'est cependant pas exhaustive.

Selon l'invention, ledit non-solvant est utilisé en excès par rapport au volume total de solvant et de non-solvant provenant de l'étape de séparation de phases. On utilise de préférence un excès d'au moins 5:1, voire de 10:1 selon les cas. On évite ainsi avantageusement la formation d'aggrégats.

Le procédé de l'invention s'applique avec succès à la préparation de microcapsules à base de polymères biocompatibles fort divers. A titre d'exemple de tels polymères, on citera des polymères de L-lactide, de D,L-lactide ou des copolymères de D,L-lactide et de glycolide.

Les exemples illustreront l'invention de façon plus détaillée, sans pour autant la limiter.

Exemple 1:

Enrobage par microencapsulation d'un placebo

A. 1,0 g de copolymère de D,L-lactide et de glycolide env. 50:50 (poids moléculaire moyen 53 000) a été premièrement dissous à 25° C dans 50 g de chlorure de méthylène et placé dans un réacteur muni d'une turbine à agitation. On a ensuite progressivement ajouté 300 micro-l d'eau au mélange organique. Durant cette addition, l'agitation du mélange a été maintenue à environ 2000 tours/min. 30 ml d'huile de silicone (Dow Corning Fluid 200) ont ensuite été introduits à 25° C dans le mélange réactionnel agité, à raison d'environ 2 ml/min. Une fois l'addition d'huile de silicone terminée, le mélange contenant les microcapsules embryonnaires a été versé à 25° C dans 2 l de 1,1,2-trichlorotrifluoroéthane pour permettre le durcissement de celles-ci et agité durant 30 minutes à environ 800 tours/min. Après filtration, le produit résultant a été séché sous pression réduite durant 24 h. Le produit ainsi obtenu a été isolé avec un rendement de 76% (théorie).

B. Les opérations ci-dessus ont été répétées dans des conditions quasi identiques, le 1,1,2-trichlorotrifluoroéthane étant remplacé par une quantité identique de trichlorofluorométhane et le durcissement ayant lieu à 15° C.

C. A titre de comparaison, les opérations ci-dessus ont été répétées, le non-solvant utilisé lors de l'étape de durcissement étant l'heptane.

Chacun des échantillons ainsi préparés a ensuite été séché sous vide sur une période prolongée, jusqu'à obtention d'un poids constant. Les résultats observés sont rassemblés comme suit:

Echantillon	Perte en poids	Résidu de solvant
A	3%	5% (1,1,2-trichlorotrifluoroéthane)
B	15%	0,5% (trichlorofluorométhane)
C	5%	8% (heptane)

Exemple 2:

Enrobage par microencapsulation d'un décapeptide

Les opérations de microencapsulation conduisant à la préparation d'un composé pharmacologiquement actif enrobé ont été effectuées avec le composé de formule (= composé A)

(pyro)Glu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Trp-Leu-Arg-Pro-Gly-NH₂.

Ce composé avait été obtenu conformément au procédé décrit par exemple dans le brevet suisse N° 615.662; il présentait un contenu en peptides de 80% environ en poids. 1,0 g de copolymère de D,L-lactide et de glycolide env. 50:50 (poids moléculaire moyen env. 53 000) a été premièrement dissous à 25° C de chlorure de méthylène et placé dans un réacteur muni d'une turbine à agitation. On a préparé séparément une solution de 30,4 mg de composé A dans 300 micro-l d'eau stérile, puis cette solution a été progressivement ajoutée au mélange organique. Durant cette addition, l'agitation du mélange a été maintenue à environ 2000 tours/min. 30 ml d'huile de silicone (Dow Corning Fluid 200) ont ensuite été introduits à 25° C dans le mélange réactionnel agité, à raison d'environ 2 ml/min. Une fois l'addition d'huile de silicone terminée, le mélange contenant les microcapsules embryonnaires a été versé à 15° C dans 2 l de trichlorofluorométhane pour permettre le durcissement de celles-ci et agité durant 30 minutes à environ 800 tours/min. Après filtration, le produit résultant a été séché sous pression réduite jusqu'à poids constant.

Le produit ainsi obtenu a été isolé avec un rendement de 70% (théorie).

Caractérisation:

— particules sphériques de diamètre compris entre 30 et 40 microns (déterminé par photographies prises au microscope électronique à balayage);

— contenu en composé enrobé 2,07% en poids (efficacité de l'encapsulation: 70% de la théorie). La teneur en composé enrobé est mesurée après dissolution des microcapsules dans le chlorure de méthylène, extraction à l'aide d'un tampon phosphate (pH 7,4) et titrage à l'aide d'un procédé de chromatographie liquide sous haute pression.

Les microcapsules ainsi obtenues peuvent être ensuite administrées in vivo après éventuelle irradiation gamma (2 Mrad).

Exemple 3:

On a répété les opérations décrites à l'exemple 2, à cette différence près que les 30,4 mg de décapeptide ont été mis en suspension dans le chlorure de méthylène sans avoir été préalablement dissous dans de l'eau.

Exemple 4:

On a répété les opérations de l'exemple 3, mais en remplaçant le trichlorofluorométhane utilisé lors de l'étape de durcissement par une quantité correspondante de 1,1,2-trichlorotrifluoroéthane. Dans ce cas, les opérations ont été effectuées à 25° C.

Les microcapsules ainsi obtenues ont été soumises à un test de vieillissement sur 12 mois: on a ainsi constaté que la cinétique de libération du décapeptide in vitro ne s'était pas modifiée tout au long de cette période.

Des microcapsules durcies à l'heptane (échantillons témoins), soumises au même test, ont par contre présenté une altération significative de leurs propriétés.

Exemple 3:

Les polypeptides ci-après ont été microencapsulés conformément au procédé de l'exemple 3, c'est-à-dire sans dissolution préalable dans de l'eau. Tout comme dans l'exemple 3, l'étape de durcissement

a été effectuée à 15° C, le non-solvant utilisé étant le trichlorofluorométhane:

- Calcitonine humaine.
- Somatostatine.
- Hormone de croissance bovine.

Les microcapsules obtenues sont comparables à celles obtenues à partir du décapeptide de l'exemple 2, du point de vue stabilité et restitution du principe actif (mesure in vitro et in vivo).